

Использование многокомпонентных ДНК проб на основе 4WJ для детекции возбудителей ИППП

Научный руководитель – Колпащиков Дмитрий Михайлович

Бобкова Мария Юрьевна

Аспирант

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: mberezovski36@gmail.com

Гибридизационные пробы являются одним из распространенных современных методов для распознавания нуклеиновых кислот. Среди наиболее известных проб встречаются молекулярные маячки, зонды для *in situ* гибридизации, а также TaqMan пробы. Разделение гибридизационной пробы на две части привело к увеличению чувствительности и специфичности к однонуклеотидным заменам при детекции нуклеиновых кислот, а также, в дальнейшем, создание многокомпонентных ДНК сенсоров на основе 10-23 дезоксирибозимов показало высокую эффективность детекции низких концентраций (100-500 пМ) [1]. Несмотря на эффективность дезоксирибозимов, работа с данными сенсорами предполагает длительную инкубацию при температуре 55°C, что сильно усложняет методику детекции и не соответствует стандартам Point-of-care диагностики, к которой стремится научное диагностическое сообщество. В связи с этим, нами предложена методика создания многокомпонентных four-way-junction (4WJ) сенсоров на основе бинарных 4WJ-сенсоров, описанных ранее [1].

Цель работы: продемонстрировать способность многокомпонентной ДНК-машины детектировать однонуклеотидные замены в участках сложной вторичной структуры РНК и ДНК бактерий *Mycoplasma genitalium* и *Neisseria gonorrhoeae*, а также сравнить лимит детекции и показатель селективности и бинарными сенсорами.

Классический 4WJ сенсор состоит из универсального молекулярного зонда (UMB), связанного со сферической наночастицей золота, фрагмента ДНК “f”, соединенного с золотым наностержнем, и свободного фрагмента ДНК “m”. F-нить разматывает анализируемую последовательность (аналит), используя свое длинное аналит-связывающее плечо, в то время как m-нить использует свое короткое связывающее плечо для селективной гибридизации с комплементарным сайтом. В растворе UMB имеет конформацию шпильки, однако когда анализируемый фрагмент присутствует в растворе, сенсор собирается, таким образом, перемещая UMB и f-нить ближе друг к другу. При добавлении дополнительной ДНК-платформы рука “m” делится надвое, тем самым увеличивая селективность к однонуклеотидным заменам, а также длинная платформа позволяет упростить «расплетение» вторичной структуры аналита.

В результате работы была показана разница в значениях лимита детекции при обнаружении *N. gonorrhoeae* (4,4 нМ для бинарного сенсора; 1,2 нМ для ДНК-машины) и при обнаружении *M. Genitalium* (1,3 нМ для бинарного сенсора; 806,7 пМ для ДНК-машины). Реакцию проводили в присутствии 50 mM MgCl₂, 50 mM Tris HCl при комнатной температуре.

Авторы исследования благодарны Министерству образования и науки Российской Федерации № FSER-2025-0019 за финансовую поддержку.

Источники и литература

- 1) Kolpashchikov D. M. Binary probes for nucleic acid analysis //Chemical reviews. – 2010. – Т. 110. – №. 8. – С. 4709-4723.
- 2) Lyalina T. A. et al. A DNA minimachine for selective and sensitive detection of DNA //Analyst. – 2019. – Т. 144. – №. 2. – С. 416-420.